

## 单胺氧化酶 (Monoamine Oxidase, MAO) 试剂盒说明书

### 微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义:

MAO(EC1.4.3.4) 主要存在于脊椎动物的各种器官, 特别是分泌腺、脑、肝脏, 在无脊椎动物、豆类的芽等植物中也存在催化单胺类物质代谢, 含量较低, 具有重要的生理功能, 其活性能反映肝纤维化的程度。此外, MAO 活性异常导致细胞内单胺类神经递质运转出现紊乱, 从而引发多种病症。

#### 测定原理:

MAO 催化单胺类底物脱氨生成相应的醛, 进一步氧化成酸; 底物在 360nm 处有特征吸收峰, 测定 360nm 光吸收下降的速率, 计算 MAO 活性。

#### 试剂组成和配制:

产品名称	OT021-100T/96S	Storage
提取液: 液体	100ml	4°C
提取液: 液体	100ml	4°C
试剂一: 液体	120ml	4°C
试剂二: 液体	2ml	4°C避光
说明书	一份	

#### 需自备仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、蒸馏水。

#### 粗酶液提取:

1、称取约 0.1g 样品, 加 1 ml 预冷的提取液一充分冰浴匀浆, 1000g, 4°C, 离心 10min, 弃沉淀; 把上清转移到另一预冷的离心管, 10000g, 4°C, 离心 30min, 弃上清; 加入 1ml 预冷的提取液二, 震荡混匀, 16000g, 4°C, 离心 40min, 弃上清; 沉淀加入预冷的 1ml 试剂一, 震荡混匀, 即粗酶液 (可用于可溶性蛋白浓度测定)。

2、细菌、真菌: 按照细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1ml 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4°C, 离心 10min, 弃沉淀; 把上清转移到另一预冷的离心管, 10000g, 4°C, 离心 30min, 弃上清; 加入 1.0 ml 预冷的提取液二, 震荡混匀, 16000g, 4°C, 离心 40min, 弃上清; 沉淀加入预冷的 1.0 ml 试剂一, 震荡混匀, 即粗酶液 (可用于可溶性蛋白浓度测定), 取上清置于冰上待测。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



3、血清：直接测定。

**测定步骤：**

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 360nm，蒸馏水调零。
- 2、操作表：

试剂名称(μl)	对照管	测定管
酶液 (μl)		20
试剂一 (μl)	180	160
试剂二 (μl)	20	20

混匀，于微量石英比色皿/96 孔板，对照管调零，测定 360nm 处吸光值 A1，然后 37°C 水浴 60min，对照管调零，测定 360nm 处吸光值 A2。ΔA=A1-A2 注意：空白管只需测定一次。

**MAO 活性计算公式：**

a . 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、按蛋白含量计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每毫克蛋白质 1min 内转化 1 nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / mg prot)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 114 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本质量计算：

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每克样品 1min 内转化 1 nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / g 鲜重)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 114 \times \Delta A \div W$$

3、按照细胞数量计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每 104 个细胞 1min 内转化 1 nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / 104 cell)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T$$

$$= 114 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每升血清 1min 内转化 1 nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / L)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 114 \times \Delta A$$

ε：底物摩尔消光系数，1460L /mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V 反总：反应总体积，0.2ml；V 样：反应中样本体积，0.02ml；V 样总：加入提取液体积，1ml；Cpr：样本蛋白浓度，mg/ml；T：反应时间，60min，W：样本质量，g

a . 用 96 孔板测定的计算公式如下

1、按蛋白含量计算



酶活定义：37°C，pH7.6 时，每毫克蛋白质 1min 内转化 1 nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / mg prot)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 228 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本质量计算：

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每克样品 1min 内转化 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / g 鲜重)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 228 \times \Delta A \div W$$

3、按照细胞数量计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每 104 个细胞 1min 内转化 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / 104 cell)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T$$
$$= 228 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积计算

酶活定义：37°C，pH7.6 时，每升血清 1min 内转化 1nmol 底物的酶量为一个酶活单位。

$$\text{DAO 活性 (nmol/min / L)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 228000 \times \Delta A$$

$\varepsilon$ : 底物摩尔消光系数, 1460L/mol/cm;  $d$ : 96 孔板光径, 0.5cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 0.2ml;  $V_{\text{样}}$ : 反应中样本体积, 0.02ml;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1ml;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度, mg/ml;  $T$ : 反应时间, 60min,  $W$ : 样本质量, g

### 注意事项：

吸光度变化应该控制在 0.01 ~ 0.8 之间。否则加大样品量或稀释样品，注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变。

